

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

(11)

2.012.831

# DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

Date de la mise à la disposition du public  
de la demande .....

27 mars 1970.

(51) Classification internationale ..... C 13 k 7/00.

(21) Numéro d'enregistrement national ..... 69 23079.

(22) Date de dépôt ..... 8 juillet 1969, à 10 h.

(71) Déposant : Société dite : HAYASHIBARA COMPANY, résidant au Japon.

Mandataire : Armand Kohn, 5, avenue Foch, 92-Garches.

(54) Production de maltose très pur.

(72) Invention : Masakazu Mitsuhashi et Kazuo Masuda.

(30) Priorité conventionnelle :

(32) (33) (31) Demandes de brevets déposées au Japon le 12 juillet 1968, n<sup>os</sup> 48.923/1968 et 48.924/1968 au nom de la demanderesse.

La présente invention concerne un procédé pour la production de maltose très pur à partir de l'amidon. Elle se rapporte, plus particulièrement, à un procédé qui comprend la gélatinisation de l'amidon et la saccharification par des enzymes, notamment par de la  $\beta$ -amylase, puis par de l' $\alpha$ -1,6 glucosidase ou inversement.

Jusqu'à présent, dans la production du maltose à partir de l'amidon, on liquéfiait ce dernier au moyen de l' $\alpha$ -amylase par exemple, pour la saccharifier ensuite par l'action d'une amylase du malt, notamment au moyen d'un mélange d' $\alpha$  et  $\beta$  amylases. Ce procédé connu permettait d'obtenir tout au plus 70% de maltose pur dans la solution résultante, même si la proportion de  $\beta$ -amylase était accrue par l'emploi d'un malt contenant une proportion sensible de cet enzyme. Le raffinage d'une telle solution est extrêmement difficile, et l'on ne peut pas purifier par recristallisation; on est donc amené, dans la pratique courante, à utiliser la précipitation fractionnée à l'alcool. Cependant, ce procédé n'est pas très économique, et le produit obtenu ne peut pas titrer plus de 93% de maltose; il contient d'ailleurs des dextrines, du malt-triose, du glucose et d'autres impuretés.

La présente invention remédie à cet inconvénient de l'art antérieur: elle apporte un nouveau procédé permettant, de façon économique, l'obtention de maltose pratiquement pur.

Le nouveau procédé suivant l'invention consiste à liquéfier d'abord une bouillie d'amidon par l'action de la chaleur ou d'enzymes liquéfiant, à réduire la viscosité de la solution obtenue par l'adjonction de  $\beta$ -amylase, et ensuite saccharifier par l'addition d'une ou de plusieurs  $\alpha$ -1,6 glucosidases; dans une autre forme d'exécution de l'invention, la liquéfaction de l'amidon et la réduction de la viscosité sont réalisées par l'action d'une ou de plusieurs  $\alpha$ -1,6 glucosidases, tandis que la saccharification est provoquée par de la  $\beta$ -amylase. Autrement dit, le nouveau procédé utilise pour la réduction de la viscosité la  $\beta$ -amylase ou bien une  $\alpha$ -1,6 glucosidase, et pour la saccharification celui de ces enzymes qui n'a pas servi à la réduction de la viscosité.

Selon une forme d'exécution particulière, fort avantageuse, de l' $\alpha$ -amylase est ajoutée au milieu de la saccharification.

Les données expérimentales qui suivent permettront de mieux comprendre l'invention.

Une suspension aqueuse à 10% d'amidon de pomme de terre a été liquéfiée jusqu'à E.D. (équivalent d'extrase) de 2,7%, au moyen de l' $\alpha$ -amylase, et le liquide obtenu fût saccharifié par l'addition de 25 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon, à 45°C, pendant 16 heures. L'échantillon ainsi préparé est désigné par A.

Une autre fraction du même liquide fût saccharifiée par l'addition de 10 unités de pullulanase, c'est-à-dire  $\alpha$ -6 glucosidase, après quoi on a ajouté 25 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon. La solution résultante est désignée par B.

Le tableau 1 ci-après donne les résultats de ces deux essais.

Tableau 1

	maltose (%)	glucose (%)	malt-triose (%)	dextrine (%)
A	65,5	1,1	3,5	29,9
B	90,5	0,4	1,2	7,9

On voit qu'avec l'emploi de la  $\beta$ -amylase seule, solution A, la teneur en maltose est seulement de 65,5%, alors qu'elle atteint 90,5%, lorsqu'on emploie de la pullulanase conjointement avec de la  $\beta$ -amylase, dans la solution B.

La pullulanase est une  $\alpha$ -6 glucosidase ou isomylase, capable de scinder spécifiquement les liaisons  $\alpha$ -1,6 glucosidiques; elle peut être obtenue par la culture de l'*Aerobacter aerogenes*. La méthode japonaise, pour la détermination de l'activité de cet enzyme, consiste à préparer d'abord une solution comprenant 1 ml de solution d'enzyme, 5 ml d'une solution à 1% d'amidon de riz glutineux, 1 ml d'un tampon d'acide acétique 0,5 M de pH 6; la solution est maintenue à 40°C pendant 30 minutes; 0,5 ml de solution résultante sont versés dans 15 ml d'eau avec 0,5 ml de solution d'iode 0,01 M. Après 15 minutes, on détermine l'absorption pour la longueur d'onde de 610 millimicrons; l'activité enzymatique susceptible de faire varier l'absorption d'une valeur de 0,1 est considérée comme correspondant à 10 unités.

La  $\beta$ -amylase est essayée, au point de vue de son activité, de la façon suivante. On prépare une solution de 5 ml d'amidon soluble à 1%, 4 ml d'un tampon d'acide acétique M/10 et 1 ml de la solution d'enzyme; le tout est maintenu à 40°C pendant 30 minutes. Le sucre réducteur, ainsi obtenu, est

exprimé en glucose: l'activité de  $\beta$ -amylase est considérée comme étant d'une unité, lorsque la quantité de glucose formé est de 10 mg.

Comme indiqué plus haut, pendant la saccharification de l'amidon liquéfié avec la  $\beta$ -amylase, l'emploi de l' $\alpha$ -1,6 glucosidase permet de scinder les liaisons  $\alpha$ -1,6 glucosidiques des ramifications de l'amylopectine de l'amidon; cela conduit à la formation de chaînes linéaires type amylose, susceptibles d'être aisément décomposées par la  $\beta$ -amylase. Il en résulte une meilleure efficacité de la liquéfaction de l'amidon par la  $\beta$ -amylase, sans formation de dextrines limitées  $\alpha$  et  $\beta$ , et sans sous-produits tels que maltotriose et glucose, à partir d'un amidon liquéfié à bas E.D. Ces facteurs contribuent à l'obtention de solutions très riches en maltose.

L' $\alpha$ -1,6 glucosidase utilisée peut être non seulement la pullulanase produite par l'Aerobacter (Hans Bender, *Bischoemische Zeitschrift* 334,79-95(1961), mais également l'isoamylase du Pseudomonas, par exemple de la variété amyloclavata (ATCC n° 21.262). L'expérience a montré que ce dernier enzyme, conjointement avec de la  $\beta$ -amylase, peut donner une solution de maltose aussi pur que celle qui est produite par la combinaison des pullulanase et  $\beta$ -amylase. On peut également employer les iso-amylases produites par une ou plusieurs des bactéries suivantes: Escherichia, Agrobacterium, Azotobacter, Erwinia, Staphylococcus, Streptococcus, Serratia, Sarcina, Nocardia, Bacillus, Pediococcus, Micrococcus, Microbacterium, Lactobacillus ou Leuconostoc.

L' $\alpha$ -1,6 glucosidase peut être ajoutée avant ou après l'addition de  $\beta$ -amylase. En outre, l'adjonction d'une amylase liquéfiant, notamment d' $\alpha$ -amylase, au cours de la saccharification, facilite la purification de la solution.

Lorsque la solution, saccharifiée au moyen de l' $\alpha$ -1,6 glucosidase et  $\beta$ -amylase, est purifiée à la manière habituelle, les faibles quantités de dextrines, à poids moléculaire élevé, qui y subsistent, sont éliminées sur une résine échangeuse d'ions. A titre d'exemple, une solution C à 39,4%, saccharifiée par l'action successive de pullulanase et de  $\beta$ -amylase, est comparée avec une solution D, à 40,5%, saccharifiée de la même façon, mais avec en plus l' $\alpha$ -amylase; on essaie de purifier les deux solutions sur une résine échangeuse d'ions. Le tableau 2 suivant donne le résultat de ces essais.

Tableau 2

		Prétraitement en 2 lits avec acide fort et base	Traitement en lits mixtes avec acide fort et base
		moyenne	forte
5	C	8 fois le volume de solution par rapport au volume de résine passée; pH 5,2; résist.spéc. $5 \times 10^4$ cm	40 fois le volume de solution; pH 5; résist.spéc. $1 \times 10^6$ cm.
10	D	20 fois le volume de solution; pH 8; résist.spéc. $9 \times 10^4$ cm.	2 fois le volume de solution; pH 3,7; résist.spéc. $1 \times 10^3$ cm.

On peut voir que la solution C est impossible à purifier par l'échange d'ions, alors que la solution D se purifie bien sur la résine échangeuse.

- 15 Suivant une particularité de la présente invention, le rendement en maltose peut être amélioré par l'emploi d'un mélange de différentes variétés d' $\alpha$ -1,6 glucosidases, au lieu d'une seule, en combinaison avec la  $\beta$ -amylase. Cela ressort de l'exemple sur les solutions E et F, récapitulé au tableau 3.

20

Tableau 3

		Enzyme utilisé	Glucose %	Maltose %	Malt-triose %	Dextrine %
E		Pullulanase	0,5	92,5	5,5	1,5
25	F	Pullulanase + isoamylase du Pseudomonas	0,5	95,0	3,4	1,1

- 30 Dans chacun de ces essais, une solution gélatinisée à 2% d'amidon de patate douce était saccharifiée avec la même quantité totale d'enzyme, à 45°C, pendant 64 heures. Le pH, de la solution E, était de 6, et de la solution F, 5,5, pendant la conversion.

- 35 Dans une autre série d'essais, des bouillies aqueuses, contenant 2% de différents amidons, ont été dispersées et gélatinisées à l'ébullition, et soumises à la température de 130°C sous pression, pendant 5 minutes. Après refroidissement, les solutions d'amidon liquéfié ont été additionnées chacune de 20 unités de pullulanase par gramme d'amidon, de façon à former une solution de viscosité réduite; on leur a ensuite ajouté 100 unités de  $\beta$ -amylase et 5 unités d' $\alpha$ -amylase par gramme d'amidon, on les a saccharifiées à 45°C, pendant 16 h. Les résultats sont réunis
- 40 au tableau 4 ci-après.

Tableau 4

	Amidon de	Degré d'amylolyse E.D. %	Composition % du sucre obtenu			
			Glucose	Maltose	Malt-triose	Dextrine
5	Pomme de terre	59,3	1,0	91,0	4,0	4,0
	Maïs	59,85	1,5	92,0	4,5	2,0
	Maïs cireux	63,40	2,0	93,5	3,5	1,0

Nota - L'activité de l' $\alpha$ -amylase était déterminée par la méthode décrite à la page 88 de "méthodes analytiques de l'industrie du sucre de l'amidon" éditée par la Société pour la recherche technique des sucres de l'amidon japonaise.

Il est à remarquer que, dans le cas du maïs cireux, la concentration de la bouillie d'amidon peut être élevée jusqu'à 4%.

En plus des essais précédents, on a utilisé, dans les mêmes conditions, 100 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon et 25 unités de pullulanase, avec, en outre, 5 unités d' $\alpha$ -amylase, pour la saccharification des solutions gélatinisées: les résultats étaient les mêmes qu'au tableau 4.

D'autre part, des bouillies d'amidon de différentes concentrations, préparées à partir de l'amidon de pomme de terre, étaient liquéfiées jusqu'à E.D. = 1% par de l' $\alpha$ -amylase à la température élevée, à la manière habituelle, et elles étaient traitées pendant 5 minutes à 130°C, sous pression. Ensuite, après l'addition des 25 unités de pullulanase par gramme d'amidon, à 45°C, on a ajouté 7 unités de  $\beta$ -amylase, et chaque échantillon était saccharifié à pH 6, à 45°C, pendant 16 heures. Les résultats sont montrés au tableau 5.

Tableau 5

	Concentration de l'amidon	E.D. %	Composition % du sucre obtenu			
			Glucose	Maltose	Malt-triose	Dextrine
	10%	56,62	0,2	77,7	8,6	13,4
	20%	53,70	0,3	75,4	8,6	15,7

On constate que les meilleures concentrations sont d'environ 10%.

D'autre part, des bouillies d'amidon de pomme de terre, de différentes concentrations, ont été liquéfiées au moyen d' $\alpha$ -amylase à température élevée, à la manière habituelle, et traitées sous pression à 130°C pendant 5 minutes (E.D. = 10%). Ensuite, après l'addition de 10 unités de  $\beta$ -amylase et de 25 unités d' $\alpha$ -1,6

glucosidase, chaque échantillon était saccharifié à pH 6, à 45°C pendant 16 heures. Les résultats étaient les mêmes que ceux du tableau 5.

En ce qui concerne la corrélation entre le degré de liquéfaction de l'amidon et la production de maltose, le tableau 6, ci-après, montre que le rendement en maltose est d'autant plus grand que le degré de liquéfaction est plus poussé pour un pour-cent E.D. faible.

Tableau 6

Degré de liquéfaction E.D.%	E.D. Final	Glucose	Maltose	Malt-triose	Dex-trine
3,8%	50,15%	0,6%	82,0%	6,7%	10,7%
11,9"	54,86"	0,9"	75,0"	13,8"	10,3"
18,8"	55,16"	1,1"	68,5"	21,0"	9,4"

Dans ces essais, on a utilisé le même mode opératoire qu'à propos du tableau 5, sauf que 22 unités de pullulanase et 15 unités de  $\beta$ -amylase ont été employées par gramme d'amidon.

Le tableau 7 montre que la proportion préférée de pullulanase est d'environ 20 unités par gramme d'amidon.

Tableau 7

Unités d'enzyme par g d'amidon		E.D.	Composition % du sucre obtenu			
Pullulanase	$\beta$ -amylase	final %	Glucose	Maltose	Malt-triose	Dextrine
10	30	55,8	0,8	85,4	6,3	7,5
20	30	57,5	0,9	87,5	6,3	5,1
200	30	58,9	1,0	82,0	13,5	-
0	30	58,9	1,1	69,6	3,5	25,7

La bouillie d'amidon de pomme de terre, utilisée, avait une concentration de 10%; le degré de liquéfaction était de 2,5%, et la saccharification eut lieu à pH 6, à 45°C, pendant 36 heures.

Bien que la production de maltose augmente proportionnellement avec la quantité de  $\beta$ -amylase ajoutée, il convient, du point de vue industriel, d'employer 30 à 60 unités de cette amylase par gramme d'amidon. La durée de saccharification requise est d'environ 46 heures.

Avec 20 unités de pullulanase et 5 unités d' $\alpha$ -amylase par gramme d'amidon, le mode de liquéfaction étant le même que dans le cas du tableau 5, la saccharification a donné les résultats récapitulés au tableau 8.

Tableau 8

	Unités de $\beta$ -amylase par g d'ami- don	Durée de saccharifi- cation h	D.E. final %	Glucose %	Maltose %	Malt-triose %	Dex- trine %
5	20	6	53,7	0,5	75	11,0	13,5
	20	12	57,6	2,2	78,9	12,2	6,7
	20	24	59,5	1,6	83,3	11,8	3,3
	20	46	60,0	1,4	82,5	13,1	3,0
10	60	6	55,5	1,1	79,6	9,0	10,3
	60	12	59,5	2,2	82,8	9,0	6,0
	60	24	61,3	2,0	87,1	8,4	2,5
	60	46	61,9	2,2	88,3	7,0	2,5

La proportion d' $\alpha$ -amylase, à ajouter en cours de saccha-  
 15 rification, peut être assez limitée, parce qu'elle sert simplement  
 à la décomposition de la dextrine restante. Habituellement, 5 uni-  
 tés environ d' $\alpha$ -amylase, par gramme d'amidon, suffisent à procurer  
 le résultat cherché. D'ailleurs, l'adjonction d'une proportion ex-  
 cessive de cet enzyme risque d'altérer la pureté du maltose. Quant  
 20 au moment de cette addition, le tableau 9 montre que c'est vers  
 le milieu de la saccharification que se situe le temps préféré.  
 Le résultat recherché ne se produirait pas pour une addition trop  
 tardive.

Tableau 9

	E.D. final %	Glucose %	Maltose %	Malt-triose %	Dextrine %
25 Essai témoin	62,82	1,4	87,3	9,1	2,2
$\alpha$ -amylase					
30 ajoutée après:					
6 h	62,80	2,2	87,3	7,4	3,1
12 h	62,80	1,3	88,2	7,1	3,4
24 h	62,90	1,4	89,8	5,9	2,9

Les vitesses de saccharification et la pureté du maltose  
 35 obtenues varient avec le type de l'amidon utilisé. Les meilleurs  
 résultats sont atteints avec de l'amidon de maïs cireux; les ami-  
 dons de maïs, de pomme de terre et l'amidon soluble donnent des  
 résultats décroissants dans cet ordre de numération.

Les exemples qui suivent illustrent l'invention non  
 40 limitativement.

BAD ORIGINAL



EXEMPLE 1

100 g d'amidon de maïs sont gélatinisés et dispersés dans 3 l d'eau bouillante. La dispersion est ensuite maintenue à 130°C, sous pression, pendant 5 minutes, puis refroidie à 45°C, son pH étant amené à 6. Après l'addition de 20 unités de pullulanase (relarguée par salification), la viscosité de la solution étant réduite, on ajoute 150 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon, et le tout est saccharifié à 45°C pendant 48 h. La solution saccharifiée est ensuite chauffée, filtrée et concentrée, puis purifiée par décoloration, à la manière habituelle. Après concentration jusqu'à une teneur en eau de 15%, des cristaux incolores sont obtenus; leur analyse montre qu'il s'agit d'un maltose très pur, composé de 93% de maltose, 1,5% de glucose, 4% de malt-triose et 1,5% d'autres sucres.

15 EXEMPLE 2

Une solution à 5% dans l'eau est préparée par gélatinisation de 100 g d'amidon de maïs cireux par le même procédé qu'à l'exemple 1. On ajoute ensuite 20 unités de pullulanase, puis 100 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon. Le mélange est saccharifié à 45°C durant 10 h, après quoi, on lui ajoute 5 unités d' $\alpha$ -amylase par gramme d'amidon. La saccharification est alors continuée pendant 40 h. La solution résultante est bouillie, décolorée et concentrée. Après une nouvelle purification sur des résines échangeuses d'ions (Amberlite IR 120, IRA 68 et IRA 411), suivie d'une concentration, le produit devient complètement solide pour une teneur en eau de 13%. L'analyse par chromatographie sur papier montre que ce produit contient 93,7% de maltose, rapporté à la matière sèche. Mis en solution à 70%, ce produit a donné des microcristaux d'une pureté de 96 à 97% de maltose.

30 EXEMPLE 3

Avec 100 g d'amidon de patate douce, purifié, on a préparé une suspension aqueuse à 3% d'amidon, que l'on a ensuite gélatinisé comme à l'exemple 1. Ensuite, 20 unités de pullulanase et 40 unités d' $\alpha$ -1,6 glucosidase provenant des bactéries du genre Pseudomonas (ATCC 21.262, décrite dans la demande de brevet PV n° 155 570) ont été ajoutées par gramme d'amidon. Le pH étant ramené à 5,5, le mélange fut saccharifié à 45°C de façon à réduire sa viscosité; ensuite, 25 unités de  $\beta$ -amylase furent ajoutées par g d'amidon. Après saccharification à 45°C, pendant 46 h, ébullition, purification sur charbon actif et concentration, le sirop obtenu titrait

BAD ORIGINAL

13% d'eau et il a immédiatement cristallisé. Le produit contenait 94,5% de maltose par rapport à la matière sèche, le rendement anhydre étant de 95%.

#### EXEMPLE 4

5 On a préparé une bouillie à 30% avec 500 g d'amidon de pomme de terre, et on lui a ajouté 0,2% de Néospitase (désignation de l' $\alpha$ -amylase produite par la Société Nagase Sangyo Co). La bouillie, au pH 6, était liquéfiée à 88°C jusqu'à ce que la valeur de E.D. ait atteint 2,7. On a ajouté de l'eau chaude pour amener la concentration en solides à 10%. La solution obtenue, additionnée de 40 unités de l'enzyme du Pseudomonas à pH 5,5 et à 45°C, et lorsque sa viscosité fut réduite, on ajouta 50 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon. Le mélange fut alors saccharifié pendant 15 h, à 45°C, avec pH 6; ensuite, après l'addition de 5 unités de Néospitase par gramme d'amidon, on continua la saccharification durant 48 h au total. La solution obtenue, réchauffée et filtrée, fut purifiée au charbon actif et sur une résine échangeuse d'ions; la solution de maltose très pure, ainsi obtenue, fut concentrée jusqu'à une teneur en eau de 15% et cristallisée. Le rendement en solides était alors de 92% et la teneur en maltose de 94% de la matière sèche.

#### EXEMPLE 5

100 g d'amidon de maïs sont ajoutés à 300 ml d'eau bouillante pour y être dispersés et gélatinisés. La dispersion est portée à 130°C, sous pression, pendant 5 minutes, puis refroidie à 80°C; son pH est alors ajusté à 6. Après l'addition de 100 unités de  $\beta$ -amylase, par gramme d'amidon, lorsque la viscosité a été réduite, on refroidit la solution à 45°C et on ajoute 20 unités de pullulanase de salification par gramme d'amidon. Le mélange est saccharifié à 45°C pendant 48 h. La solution obtenue est chauffée, filtrée et concentrée à 15% d'eau; elle donne alors des cristaux incolores. Le produit contient 92,5% de maltose, 2% de glucose, 4% de malt-triose et 1,5% d'autres sucres.

#### EXEMPLE 6

35 Après avoir gélatinisé 100 g d'amidon de maïs cireux, comme dans l'exemple 5, on a refroidi la solution à 50°C, et on lui a ajouté 50 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon. Le pH était amené à 6. Lorsque la viscosité a baissé, 20 unités de pullulanase par gramme d'amidon ont été ajoutées et le mélange était saccharifié à 45°C pendant 10 h; on a alors ajouté 5 unités d' $\alpha$ -amylase par gramme

BAD ORIGINAL

et on a continué la saccharification pendant 45 h encore. La solution obtenue était bouillie, décolorée et concentrée à la manière habituelle.

- Après une nouvelle purification sur les résines Amberlite IR 120, 5 IRA 68, IRA 411, suivie de concentration, le produit est devenu solide avec une teneur en eau de 13%. La chromatographie sur papier a montré une teneur en maltose de 93% de la matière sèche. En solution aqueuse à 70% le produit a donné des microcristaux.

#### EXEMPLE 7

- 10 On a préparé une suspension à 15% d'amidon de patate douce, et on lui a ajouté 0,2% d'enzyme liquéfiant, d'origine bactérielle, et on a effectué la saccharification à 190°C, jusqu'à atteindre la valeur de 1,7 E.D. La solution aqueuse résultante, refroidie à 70°C, a été additionnée de 30 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon; à pH 6, la solution a été saccharifiée et, lorsque sa viscosité a baissé, on lui a ajouté 20 unités de pullulanase et 40 unités d' $\alpha$ -1,6 glucosidase (même qu'à l'exemple 3) par gramme d'amidon. On a alors ramené le pH à 5,5 et saccharifié le mélange à 45°C pendant 46 h. Après ébullition, purification et concentration habituelles, le sirop obtenu contenait 13% d'eau et cristallisait immédiatement; il contenait 95% de maltose par rapport à la matière sèche et le rendement en maltose ressortait à 95%.

#### EXEMPLE 8

- Une bouillie à 30% d'amidon de pomme de terre est préparée avec 25 500 g de cet amidon. Après l'addition de 0,2% de Neospitase (même qu'à l'exemple 4) le pH étant 6, la bouillie est liquéfiée à 88°C pour atteindre un E.D. de 2,7. On ajoute alors de l'eau chaude pour former une solution à 10% de solides. Ensuite, on ajoute 50 unités de  $\beta$ -amylase par gramme d'amidon, et l'on saccharifie à 80°C; lorsque la viscosité a baissé, 40 unités d'enzyme du *Pseudomonas* (isoamylase) sont ajoutées par gramme, et le mélange est saccharifié à pH 6, pendant 15 h, à 45°C; on ajoute alors de nouveau 5 unités de Neospitase par gramme, et l'on continue la saccharification. Après un total de 48 h de saccharification, 35 après chauffage, filtration et purification habituels, on effectue un raffinage sur une résine échangeuse d'ions. La solution est concentrée jusqu'à 15% d'eau et cristallisée. Le rendement en solides est de 90% sur matière sèche et la teneur en maltose de 94%.

40

L'invention n'est pas limitée aux détails ci-dessus.

BAD ORIGINAL

REVENDEICATIONS

1. Procédé pour la production de maltose de haute pureté à partir de l'amidon, par gélification d'une bouillie d'amidon, par l'action de la chaleur ou d'enzymes liquéfiantes, caractérisé en ce que la solution aqueuse gélifiée est soumise à l'action de la  $\beta$ -amylase ou bien d'une  $\alpha$ -1,6 glucosidase en vue de la réduction de la viscosité, et elle est ensuite saccharifiée par l'action d'une ou de plusieurs de ces dernières enzymes.
2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que la réduction de la viscosité est réalisée par l'adjonction de  $\beta$ -amylase, tandis que la saccharification est effectuée par l'addition d'une ou de plusieurs  $\alpha$ -1,6 glucosidases.
3. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que la liquéfaction de l'amidon et la réduction de la viscosité sont réalisées par l'action d'une ou de plusieurs  $\alpha$ -1,6 glucosidases, tandis que la saccharification est produite par la  $\beta$ -amylase.
4. Procédé suivant une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que de l' $\alpha$ -amylase est ajoutée pendant la saccharification, de préférence vers le milieu de la durée de celle-ci.
5. Procédé suivant une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la ou les  $\alpha$ -1,6 glucosidases proviennent des cultures de bactéries telles que Aerobacter, Pseudomonas, Escherichia, Agrobacterium, Azotobacter, Erwinia, Staphylococcus, Streptococcus, Serratia, Sarcina, Nocardia, Bacillus, Pediococcus, Micrococcus, Mycobacterium, Lactobacillus ou Leuconostoc.